

## 横川吸虫のマウスにおける感染に関する実験的研究

金沢大学医学部寄生虫学講座 (主任：吉村裕之教授)

大 西 義 博

(昭和58年8月4日受付)

横川吸虫 *Metagonimus yokogawai* Katsurada, 1912 のメタセルカリアをマウスに実験的に感染させ、小腸内腔からの虫体回収率に影響を及ぼす諸因子について検討した。まず、メタセルカリアの感染力と冷蔵庫内 (4℃) での保存期間との関係を調べた。その結果、メタセルカリアの保存が3週間以内であれば、感染力に低下がみられず実験に使用しうることがわかった。25コより800コにいたる種々の数のメタセルカリアをマウスに経口投与すると、投与数の増加とともに虫体回収率が逆に減少したが、投与数が100コでは比較的安定した高い虫体回収率を得ることがわかった。メタセルカリア100コをddYマウスに投与した場合、3～7日目の虫体回収率は77.7%～81.4%であった。しかし、ddYとC57BL/6マウスの雌雄における感受性の差異は認められなかった。4系統の近交系マウスを含むマウスの感受性はddY, DBA/2, BALB/c, C3H/He とC57BL/6の順であった。これらのことは、ddYマウスが横川吸虫感染に対して感受性の高い終宿主であることを示している。ヌードマウスやコーチゾン処理マウスでは、感染後2週間の虫体回収率が対照のBALB/cやddYマウスに比べ高かった。このような結果は、感染マウスの腸管における炎症反応とともに胸腺依存性の免疫機序が虫体排除現象に関与していると思われる。つぎに、本吸虫の感染に対する感染防御効果は感染後3日目には出現し、35日目にほぼ最高となり、105日目でもなお持続した。また、初感染後21日目に再感染を行うと、初感染時よりも虫体排除がより早く見られた。以上、本研究により、横川吸虫のマウスにおける感染にはメタセルカリア側の条件だけでなく、マウスの各種系統による感受性の違いや感染による宿主の防御免疫機序が関与するものと考えられた。

---

**Key words** *Metagonimus yokogawai*, mouse, worm recovery, susceptibility, protective immunity.

---

横川吸虫 *Metagonimus yokogawai* Katsurada, 1912<sup>1)</sup>は日本を初め、韓国、台湾、その他東南アジアに広く分布し、アユ、ウグイ、ボラなどの魚類を中間宿主としている。従って、これらの魚を生食する習慣のある我が国では、全国の諸河川流域において現在なお広く感染が見られる。最近、吉村ら<sup>2)</sup>は石川県奥能登地方の河川流域に濃厚な人体感染が見られることを明らかにし、同河川で捕獲されたアユやウグイに本吸虫のメタセルカリア (metacercariae, 以下 Mc と略) が極めて多数寄生していることを認めた。

ところで、これまで本吸虫に関する疫学、中間宿主あるいは形態等についての研究は甚だ多い<sup>3)</sup>が、宿主と本吸虫との寄生関係、特に宿主における免疫応答の有無についての研究は少なく、近年の免疫学的観点か

らの本吸虫に関する研究は行われていない。しかし、かつて具島<sup>4)</sup>は本吸虫を感染させたマウスが防御免疫を獲得し、感染させる回数の増加により抵抗性が増大することを認めるとともに、成虫乳剤抗原の注射や経口投与でもマウスが感染に対して抵抗性を獲得することを観察した。

ひるがえって、マウスなどの実験小動物における本吸虫の経時的な寄生状況の観察については、古賀<sup>5)</sup>、具島<sup>7)</sup>、斉藤<sup>8)</sup>、横川ら<sup>9)</sup>および影井ら<sup>10)</sup>の報告の他少ない。これら研究者は、宿主の種類によって感染の様相が多様であり、かつ同種小動物においても虫体回収率にかなりばらつきがあることを認めている。しかし、その原因については充分検討されていない。横川ら<sup>9)</sup>と影井ら<sup>10)</sup>は本吸虫に対する宿主の感受性の高いもの

---

Experimental Studies on *Metagonimus yokogawai* Infection in the Mouse. Yoshihiro Ohnishi, Department of Parasitology (Director: Prof. H. Yoshimura), School of Medicine, Kanazawa University.

として、イヌとハムスターをあげており、感受性の低いマウスを非好適宿主であると考察した。

近年、各種の実験動物は寄生虫の発育史、宿主の病態生理や免疫反応、治療剤の開発などの実験モデルとして重要な役割を果たしており、また遺伝形質の解明された系統マウスを用いることによって、宿主と寄生虫との寄生関係について遺伝的な解析をも可能にした<sup>11)12)</sup>。さらにこのような系統マウスを用いる実験モデルは、寄生虫の寄生現象、殊に腸管内線虫類の *Strongyloides ratti*<sup>13)</sup> (以下 *S. ratti* と略)、*Trichinella spiralis*<sup>14-22)</sup> (以下 *T. spiralis* と略)、*Trichuris muris*<sup>23-28)</sup> (以下 *T. muris* と略) などが宿主から排除される現象の解析にも用いられている。また吸虫類でも、*Schistosoma mansoni*<sup>27)</sup> (以下 *S. mansoni* と略) や *Schistosoma japonicum*<sup>28)</sup> (以下 *S. japonicum* と略) および *Fasciola hepatica*<sup>29)30)</sup> (以下 *F. hepatica* と略) の研究にも応用されているが、横川吸虫など腸管内寄生の吸虫類ではその報告は少ない。

他方、先天的に胸腺の欠損したヌードマウス (*nu/nu*)<sup>31-33)</sup> や肥肝細胞の欠損したマウス (*w/w<sup>u</sup>*)<sup>34-36)</sup>、さらに免疫抑制法として X 線照射<sup>37-40)</sup> やコーチゾン処理<sup>38)41-46)</sup> を受けたマウスが用いられ、寄生虫に対する宿主の免疫応答の解明に一役を担っているが、横川吸虫の感染についての検討はまだなされていない。

著者は本研究において、クローズドコロニーにて生産された specific pathogen free (以下 SPF と略) の ddY マウス (non-inbred strain) を用いて、本吸虫に対する感受性について腸管内腔からの虫体回収率を指標とする検討を行い、Mc の条件によっては虫体回収率が高く、個々のマウス間における虫体回収率のばらつきも比較的少ないことを明らかにすることができた。この結果をもとに、マウスの系統差等が本吸虫の寄生現象にいかなる変化をもたらすか、すなわち宿主の条件によって感受性に差異があるかどうかを近交系マウス (inbred strain)、ヌードマウスやコーチゾン処理マウスを用いて検討した。さらに本吸虫の初感染において獲得される感染防御能の有無、ならびにその発現時期と持続期間を明らかにし、本吸虫に対する感染防御免疫機構につき考察した。以下、その実験結果の概要を述べる。

#### 材料および方法

##### I. 横川吸虫 Mc の分離方法と保存

本吸虫の Mc は奥能登地方の河原田川および町野川で捕獲したウグイ (*Tribolodon hakonensis*) の真皮寄生のものを使用した。すなわち、捕獲したウグイは使用するまで水槽で飼育し、死亡したウグイはなるべく

早く 4°C (冷蔵庫内) で保存し数日以内に Mc を分離した。ウグイのウロコを除去した後、真皮を人工消化液 (ペプシン 1 : 10000, 1 g ; 濃塩酸, 7 ml ; 蒸留水, 1 l) で 37°C 3 時間消化し Mc を回収した<sup>47)</sup>。その後、Mc を含む沈査を集め、さらに上清を捨てて冷生理食塩水を加える操作を数回繰り返した。次に、実体顕微鏡下で残渣を完全に除去し、成熟した横川吸虫の Mc のみを Mc 保存液<sup>47)</sup> (塩化ナトリウム, 1.2 g ; 塩化カリウム, 0.04 g ; 塩化カルシウム, 0.04 g ; 蒸留水, 100 ml) にて 4°C (冷蔵庫内) で保存した。

##### II. 実験動物と感染方法

1. 実験動物；実験に供したマウスは、クローズドコロニーで生産された非近交系の ddY マウス、近交系マウスの 4 系統 : BALB/c · C3H/He · C57BL/6 · DBA/2, これら近交系マウスの交雑第 1 代の 3 系統 : B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> (C57BL/6 ♀ × C3H/He ♂) · BDF<sub>1</sub> (C57BL/6 ♀ × DBA/2 ♂) · CDF<sub>1</sub> (BALB/c ♀ × DBA/2 ♂) およびヌードマウスの BALB/c *nu/nu* (対照として BALB/c *+/nu*) のそれぞれの雄である。一方、雌雄の感受性の比較には ddY マウスと C57BL/6 マウスの雌も用いた。すべてのマウスは SPF 条件にて生産された 6 週令 (体重 25-30 g) で購入し、1 週間以内に使用した。実験中のマウスは普通条件下で飼育したが、ヌードマウスとその対照については無菌箱内で滅菌した飲料水と固型飼料とを与え飼育した。

また、中山ら<sup>42)</sup>の方法に準じてコーチゾン処理した ddY マウスも用いた。コーチゾン処理は市販のシェロソ液 (酢酸コーチゾン水性懸濁液) を 1 回量として 0.25 mg / 0.1 ml ずつ、感染 1 日前より 2 日おきにマウス 1 匹あたり計 5 回、全量 1.25 mg を皮下注射して行った。

2. 感染方法；実体顕微鏡下で Mc の一定数を数え、胃カテーテルとしてポリエチレン製チューブを用いて、直接マウスの胃内に少量の保存液とともに投与し、感染させた。

##### III. 虫体の回収

横川吸虫のマウスにおける寄生状況の検討は、小腸内腔から検出した虫体の回収率をもって行った。感染マウスをエーテル過麻酔により殺処分した後、小腸を腹腔から分離し、上部より 6 等分し順に I ~ VI とした。各部分を水の入ったペトリ皿中で縦切開し、2 時間後 (上清を数回交換) 腸粘膜から遊離した虫体を、実体顕微鏡下で回収した。

##### IV. 実験結果の解析

個々の実験の虫体回収率から平均値と標準偏差を求め *t* 検定 (分散が等しい時)、Man-Whitney の U 検定あるいは  $\chi^2$  検定を用いて有意差の検定を行い、 $p < 0.05$  をもって有意差ありとした。また、個々の虫体回収率

の適否については Siminov の棄却検定を行い、異常値を示したものは artifact として除去した。ただし、虫体排除期のそれらは多少のばらつきを示したが、個体差と考え棄却を行わなかった。

## 成 績

### I. ddY マウスにおける Mc 投与数と寄生状況との関係

#### 1. Mc の保存期間がその感染力に及ぼす影響

感染実験に用いられる Mc の感染力は、その成熟度や魚体から分離後の生活力等に大きく左右される。前者は実体顕微鏡下でその形態学的所見から判定でき、成熟 Mc のみを分離することができる。後者についてはたとえ成熟した Mc であっても、分離後冷蔵庫内での保存が長くなれば、Mc の生活力が弱まり感染力が低減していくと考えられる。このような観点から、ここでは保存による影響についてまず検討した。

この実験では、冷蔵庫内で保存した Mc を分離後 1 週目から 5 週目までの各期間について、1 群 6 匹ずつの ddY マウスの雄に Mc 100 コずつを経口投与し、5 日目に剖検して虫体回収率を求めた。その結果は図 1 に示したごとく、小腸内腔からの虫体回収率は分離後 1 週目より 5 週目までそれぞれ  $86.9 \pm 5.0\%$ ,  $84.8 \pm 6.5\%$ ,  $87.3 \pm 2.7\%$ ,  $87.5 \pm 2.7\%$ ,  $47.2 \pm 39.0\%$  であり、保存 1 週目から 4 週目までの虫体回収率には有意差はなく、高い虫体回収率を得た。しかし、保存が 4 週間以上になると小腸上部 (I ~ III) の寄生数あるいは虫体回収率が減少した。

以上の実験から、以下の実験には実験結果の誤差を少なくするために、保存期間が 3 週間以内の Mc のみを使用した。

#### 2. Mc の投与数と寄生状況との関係

Mc の投与数を 25 コ, 100 コ, 400 コおよび 800 コと増加させ、感染後 7 日目に ddY マウスの雄の小腸内腔から虫体を回収した。その結果は表 1 に示したごとく、Mc の投与数が 25 コの場合、虫体回収率は  $88.0 \pm 6.9\%$  と高値を示し、ばらつきは小さかった。しかし、投与数の増加とともに虫体回収率はそれぞれ  $71.9 \pm 14.5\%$ ,  $49.8 \pm 27.6\%$ ,  $15.8 \pm 21.7\%$  と減少し、ばらつきも増加した。また、小腸内寄生部位も投与数の増加とともに小腸上部から小腸下部へ移行し、800 コ投与では小腸下部にわずかの虫体しか認められなかつ

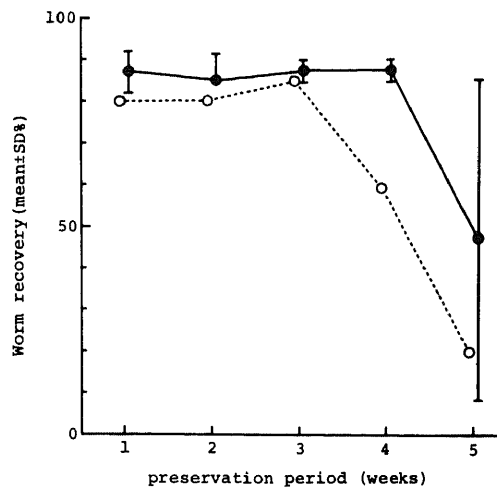


Fig. 1. Relation between worm recovery and periods of the preservation of metacercariae in the refrigerator at 4°C. Worm recovery from the whole lumen of small intestine (●—●) and upper small intestine (○····○) on the 5th day after infection. Number of metacercariae given: 100. The number of mice examined was six in each group.

Table 1. Worm recovery on the 7th day after infection from mice orally given different numbers of metacercariae

No. of mice examined	No. of Mc* given per mouse	Total No. of Mc given	Number of worms recovered from								Mean±SD %	Range %
			different locations of small intestine :							Total		
			I <sup>b</sup>	II	III	IV	V	VI				
15	25	375	50	183	91	6	0	0	330	88.0±6.9	76-96	
13	100	1,300	35	168	494	147	76	15	935	71.9±14.5	49-94	
11	400	4,400	13	123	233	318	1,046	458	2,191	49.8±27.6	0.8-74.8	
5	800	4,000	0	0	1	0	224	406	631	15.8±21.7	0.6-49.5	

<sup>a</sup>Mc: metacercariae.

<sup>b</sup>I~VI: Each number indicates the part equally divided into 6 segments in the whole intestine from oral to anal side.

た。

以上の結果から、Mc 100 コと 25 コの投与群と比較的安定した高い虫体回収率を得たので、以下の実験はすべて Mc 100 コ投与とした。

### 3. Mc 100 コ投与後のマウス小腸内腔からの寄生状況の経時的な変動

ddY マウスの雄に Mc 100 コを経口投与し、小腸内における寄生状況の経時的変動を観察した。感染後 3 日目から 210 日目に至る各時期にマウスを剖検し、小腸内腔からの虫体回収率をみた。表 2 に示したごとく感染後 3 日目、5 日目と 7 日目の虫体回収率はそれぞれ  $79.0 \pm 4.4\%$ 、 $81.4 \pm 6.7\%$ 、 $77.7 \pm 8.2\%$  と高値であった。しかし、感染後 10 日目で急激な減少が認められ  $39.1 \pm 26.8\%$  となり、14 日目には  $5.7 \pm 5.3\%$  となった。その後、210 日目においてはわずかの寄生 (0.2%) しか認められなかった。なお、虫体回収率の急激な減少がみられる感染後 10 日目の時期には、虫体回収率にかなりのばらつきを認めた。

マウス小腸内腔の寄生部位について経時的にみると、投与後 5 日目までは小腸上部 (I~III) に  $67.5\% \sim 69.7\%$  の寄生があり、部位的には小腸 III 部に最も多い寄生 ( $39.2\% \sim 53.2\%$ ) を認めた。しかし、感染後 7 日目から寄生部位が小腸下部へ移行し始め、その後大部分の虫体が排除された。

### II. マウス系統差ならびにコーチゾン処理マウスにおける感受性の差異

ddY マウスに本吸虫を感染させると、14 日目前後で

虫体が大部分排除されることは前述した実験成績で明らかとなった。しかしながら、この非近交系の ddY マウスでは、虫体の排除される時期にかなりのばらつきがみられたことから、この現象に宿主の条件が関与していることが示唆された。よって、宿主の条件についてマウスの雌雄や近交系マウスを用いて検討した。

#### 1. マウスの雌雄における感受性

ddY マウスの雌雄の感受性を比較するため、それぞれのマウスに Mc 100 コを投与し 7 日目と 10 日目の虫体回収率を求めた。その結果は図 2 に示すごとく、雄の感染後 7 日目の虫体回収率は  $67.6 \pm 11.6\%$  ( $n = 8$ )、雌のそれは  $73.8 \pm 8.0\%$  ( $n = 5$ ) であった。雌の方がやや感受性が高い傾向を示したが、有意差は認められず、小腸 III 部に最も多い寄生を認めた。次に、感染後 10 日目の虫体回収率をみると、雄で  $40.2 \pm 22.9\%$  ( $n = 6$ )、雌で  $14.4 \pm 30.5\%$  ( $n = 5$ ) であり、かなりの個体差がみられたものの有意差は認められなかった。

次に、近交系マウスの C57BL/6 の雌雄についても比較したが、感染後 5 日目の虫体回収率は雄で  $39.0 \pm 13.4\%$  ( $n = 4$ )、雌で  $35.6 \pm 13.0\%$  ( $n = 5$ ) であり、ddY マウスと同様有意差は認められなかった。

したがって、以下の実験には雄のみを用いて検討した。

#### 2. マウス系統差による感受性の差異

近交系マウスの BALB/c, C3H/He, C57BL/6 と DBA/2 の 4 系統にそれぞれ Mc 100 コを投与し、

Table 2. Worm recovery at various days after infection from mice orally given metacercariae

Days after infection	No. of mice examined	No. of Mc <sup>a</sup> given each	Total of Mc given	Number of worms recovered from									Mean $\pm$ SD	Range
				different locations of small intestine :								Total		
				I <sup>b</sup>	II	III	IV	V	VI	%	%			
3	10	100	1,000	19	204	310	176	73	8	790	79.0 $\pm$ 4.4	73-85		
5	10	100	1,000	6	128	433	132	76	39	814	81.4 $\pm$ 6.7	70-91		
7	10	100	1,000	8	32	294	181	252	10	777	77.7 $\pm$ 8.2	66-90		
10	10	100	1,000	25	18	96	95	73	84	391	39.1 $\pm$ 26.8	2-72		
14	10	100	1,000	2	13	9	12	4	17	57	5.7 $\pm$ 5.3	0-17		
21	10	100	1,000	9	9	10	2	3	0	33	3.3 $\pm$ 3.5	0-11		
35	10	100	1,000	3	4	2	1	0	0	10	1.0 $\pm$ 1.4	0-4		
49	10	100	1,000	0	2	4	0	0	0	6	0.6 $\pm$ 0.7	0-2		
70	10	100	1,000	1	4	0	0	0	0	5	0.5 $\pm$ 0.8	0-2		
210	6	100	600	0	1	0	0	0	0	1	0.2 $\pm$ 0.4	0-1		

<sup>a</sup>Mc: metacercariae.

<sup>b</sup>I~VI: Each number indicates the part equally divided into 6 segments in the whole intestine from oral to anal side.

経時的な剖検によって虫体を回収した。その結果は表3に示したごとく、C57BL/6マウスの虫体回収率は感染後5日目で $45.2 \pm 17.1\%$ と低く、7日目には虫体が回収されず、対照群のddYマウスのそれぞれ $78.7 \pm 11.4\%$ 、 $78.0 \pm 9.0\%$ に比べて有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。他の3系統のC3H/He, BALB/cとDBA/2マウスにおいては、感染後5日目の虫体回収率がそれぞれ $71.2 \pm 12.0\%$ 、 $76.6 \pm 9.6\%$ 、 $80.8 \pm 5.1\%$ であり、対照のddYマウスのそれとほぼ同値を示した。しかし、これら近交系マウスの虫体回収率も感染の経過と

ともにddYマウスよりもより早く低減した。すなわちC3H/Heマウスでは、虫体回収率は感染後7日目で $4.6 \pm 7.1\%$ となった。BALB/cマウスでは、虫体回収率は感染後7日目で $25.6 \pm 30.1\%$ であったが、感染後10日目で $2.6 \pm 0.9\%$ となった。DBA/2マウスでは虫体回収率は感染後7日目で $45.2 \pm 11.6\%$ 、10日目で $4.3 \pm 3.3\%$ 、14日目で $0.8 \pm 1.0\%$ となった。以上の結果から、これらのマウスの感受性はddY, DBA/2, BALB/c, C3H/He, C57BL/6の順であることがわかった。

さらに、この感受性の差異に関連した遺伝的な支配を検討するために、上記近交系マウス間の交雑第1代のBDF<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, CDF<sub>1</sub>における感受性についても観察した。その結果は表4に示したごとく、Mc 100コを投与した後7日目の虫体回収率はddYマウスの $70.3 \pm 7.3\%$ よりも低く、上記の系統順にそれぞれ $0.2 \pm 0.4\%$ 、 $0.7 \pm 1.6\%$ 、 $46.4 \pm 9.1\%$ であった。また、感染後10日目のそれもddYマウスの $17.4 \pm 31.3\%$ に比して、それぞれ $0\%$ 、 $0.2 \pm 0.4\%$ 、 $3.0 \pm 4.0\%$ と低値を示した。すなわち、これら交雑第1代のマウスの感受性は感受性の低い方の親のそれにほぼ一致した。

### 3. ノードマウスおよびコーチゾン処理マウスにおける感受性

近交系マウスの系統間に認められた感受性の差異に免疫機序がどの程度関与するかを、ノードマウスやコーチゾン処理マウスを用いて検討した。その結果は表5に示したごとく、ノードマウスBALB/c *nu/nu*では感染後14日目の虫体回収率は $51.4 \pm 8.8\%$ であり、対照のBALB/c *+/nu*やddYマウスのそれぞれ $0.2 \pm 0.5\%$ と $9.8 \pm 8.2\%$ に比べて著明な高値を示した ( $p < 0.01$ )。また、小腸内寄生部位をみると、ヌー

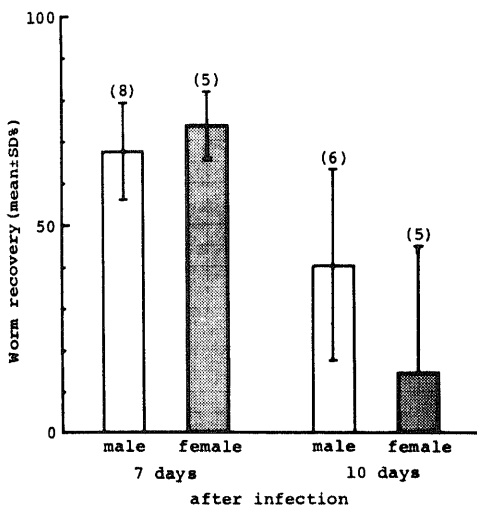


Fig. 2. Worm recovery on the 7th and the 10th day after infection from males and females of ddY mice. Number of metacercariae given: 100. ( ): the number of mice examined. Significant difference was not found.

Table 3. Worm recovery from five strains of mice orally given metacercariae<sup>§</sup>

Strain of mouse	Worm recovery† after infection in periods of			
	5 days	7 days	10 days	14 days
C57BL/6	$45.2 \pm 17.1$ (5)***	0 (5)**	ND	ND
C3H/He	$71.2 \pm 12.0$ (5)	$4.6 \pm 7.1$ (5)***	ND	ND
BALB/c	$76.6 \pm 9.6$ (5)	$25.6 \pm 30.1$ (5)*	$2.6 \pm 0.9$ (5)**	$1.3 \pm 1.5$ (3)
DBA/2	$80.8 \pm 5.1$ (5)	$45.2 \pm 11.6$ (5)**	$4.3 \pm 3.3$ (4)*	$0.8 \pm 1.0$ (4)
ddY	$78.7 \pm 11.4$ (10)	$78.0 \pm 9.0$ (5)	$40.2 \pm 22.9$ (6)	$3.4 \pm 3.3$ (5)

§: number of metacercariae given, 100.

†: mean  $\pm$  SD %.

( ): the number of mice examined.

ND: not done.

Significant difference from ddY group:

\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ .

ドマウスにおいて虫体が小腸内全域に寄生しており、虫体排除が遅延していると思われた。一方、コーチゾン処理マウスにおいても、この時の虫体回収率が  $27.0 \pm 39.7\%$  と高くなり、コーチゾン処理がマウスの感受性を高める結果を得た。

### Ⅲ. 初感染における感染防御能の有無ならびにその発現時期と持続期間

ddYマウスで見られた虫体排除現象は、ヌードマウスやコーチゾン処理マウスにおいて遅延したことから、この排除現象には宿主の免疫応答が関与しているものと推察されたので、以下の実験を行った。

#### 1. 感染防御能の有無ならびにその発現時期と持続期間

ddYマウスに Mc 100 コを感染した後、3日目から105日目までの各時期に、同数の Mc を再感染する群(実験群; C) と再感染しない群(A) との2群に分

け、再感染後5日目の時期に虫体を回収した。さらに、再感染に用いたと同じ Mc を1回感染した群(B) も同様に感染後5日目の虫体を回収した。それぞれの虫体回収率を用いて、再感染後の虫体減少率を次の式で求めた。

$$\text{虫体減少率 (\%)} = \frac{A+B-C}{A+B} \times 100$$

これらの結果は表6のごとくであり、初感染後3日目に再感染した群では、虫体回収率が27.3%減少した。その後、この減少率は次第に増加し、35日目では84.8%とほぼ最高となり、70日目においても同様の値がみられた。しかし、105日目には虫体減少率は42.0%となった。21, 35, 70日目の虫体減少率には有意差は認められなかった。

#### 2. 初感染後21日目に再感染した時の寄生状況の経時的な変化

Table 4. Worm recovery from ddY mice and F<sub>1</sub> hybrids of inbred mice orally given metacercariae<sup>§</sup>

Strain of mouse	Worm recovery <sup>†</sup> after infection in periods of	
	7 days	10 days
BDF <sub>1</sub> (C57BL/6♀×DBA/2♂)	0.2±0.4 (5)*	0 (6)*
B <sub>6</sub> C <sub>3</sub> F <sub>1</sub> (C57BL/6♀×C3H/He♂)	0.7±1.6 (6)**	0.2±0.4 (5)
CDF <sub>1</sub> (BALB/c♀×DBA/2♂)	46.4±9.1 (5)**	3.0±4.0 (5)
ddY	70.3±7.3 (4)	17.4±31.3(5)

§: number of metacercariae given, 100.

†: mean±SD%.

( ): the number of mice examined.

Significant difference from ddY group:

\*, p<0.05; \*\*, p<0.01.

Table 5. Worm recovery on the 14th day after infection from nude mice orally given metacercariae

Strain of mouse	No. of mice examined	Total No. of Mc <sup>a</sup> given	Number of worms recovered from								Mean $\pm$ SD %	Range %
			different locations of small intestine :							Total		
			I <sup>b</sup>	II	III	IV	V	VI	Total			
BALB/c <i>nu/nu</i>	5	500	29	44	45	66	70	3	257	51.4 $\pm$ 8.8**	41-64	
BALB/c <i>+/nu</i>	5	500	1	0	0	0	0	0	1	0.2 $\pm$ 0.5	0-1	
ddY (control)	5	500	3	6	8	1	0	31	49	9.8 $\pm$ 8.2	1-17	
ddY (cortisone treatment)#	5	500	10	10	29	62	18	6	135	27.0 $\pm$ 39.7	3-97	

<sup>a</sup>Mc: metacercariae.

<sup>b</sup>I~VI: Each number indicates the part equally divided into 6 segments in the whole intestine from oral to anal side.

<sup>#</sup>: Injection was started one day before infection with 5 doses of 0.25mg/0.1ml/day of cortisone acetate two-days interval (total dose=1.25mg/mouse).

\*\* : Significant difference from BALB/c *+/nu* or ddY groups (p<0.01 or p<0.001).

Table 6. Worm recovery on the 5th day after infection§ challenged 3, 7, 14, 21, 35, 70 and 105 days after primary infection§

Days after primary infection	Worm recovery†			Reduction rate (%)
	Control		Experiment	
	A	B		
3	61.8±36.5 (5)	89.8±5.4 (6)	110.2±99.5 (5)	27.3
7	27.8±33.6 (5)	84.0±2.2 (4)	38.8±44.1 (5)	65.3
14	2.6±3.3 (5)	84.0±10.1 (5)	28.0±33.2 (5)	67.7
21	0.4±0.5 (5)	78.2±12.3 (6)	20.4±32.9 (5)	74.0
35	0.3±0.6 (3)	75.3±10.6 (7)	11.5±12.2 (4)	84.8
70	0.3±0.5 (4)	82.8±7.8 (5)	14.4±26.8 (5)	82.7
105	0 (4)	76.6±7.2 (5)	44.4±27.4 (5)	42.0

§ : number of metacercariae given, 100.

† : mean±SD%.

( ) : the number of mice examined.

$$\text{Reduction rate (\%)} = \frac{A+B-C}{A+B} \times 100$$

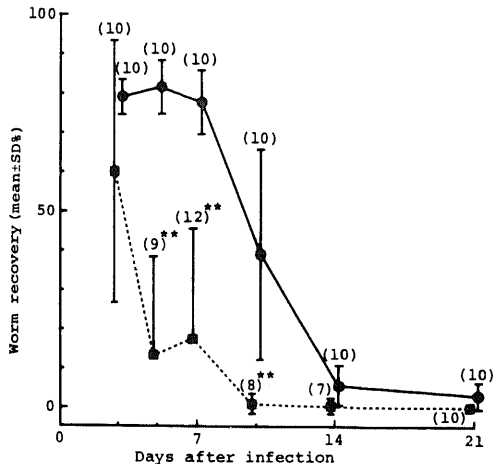
A, primary infection; B, challenge infection;  
C, primary infection+challenge infection.

Fig. 3. Transitional changes of worm recovery of infection challenged on the 21st day after primary infection. ●—●, worm recovery of primary infection; ■·····■, worm recovery of challenge infection. Number of metacercariae given: 100. ( ): the number of mice examined. Significant difference from group of primary infection: \*\*,  $p < 0.01$ .

ddY マウスに Mc 100 コを感染し、21 日目に同数の Mc を再感染し、経時的な虫体回収率を観察した。その結果は図 3 にみられるように、再感染後 3 日目で

60.1±33.2% ( $n=10$ ), 5 日目で 13.4±25.3% ( $n=9$ ), 7 日目で 17.6±28.1% ( $n=12$ ), 10 日目で 1.1±2.8% ( $n=8$ ), 14 日目で 0.7±1.9% ( $n=7$ ), 21 日目で 0.2±0.6% ( $n=10$ ) となった。再感染後 5~10 日目の虫体回収率は初感染のそれに比べて有意に低く ( $p < 0.01$ ), 再感染では初感染より早く虫体が排除される傾向を示した。

## 考 察

著者はマウスにおける横川吸虫の寄生現象に関与する諸条件について検討した。虫体側の要因としては Mc の保存期間、投与数、寄生数と寄生期間、宿主側についてはマウスの雌雄、系統マウス (近交系マウス・交雑第 1 代・ヌードマウス) およびコチゾン処理マウスのそれぞれの感受性について虫体回収率を指標として比較した。さらに、本吸虫感染マウスにおいて感染防御能がみられるか否かも再感染後の虫体回収率によって確めた。以下得られた成績をもとに考察を加える。

### I. マウスにおける横川吸虫の感染について

これまで、マウス小腸内腔における本吸虫の寄生状況について、経時的な観察は少ない。具島<sup>7)</sup>は筑後川産アユやウグイに寄生した Mc を 100 コずつマウスに投与し、感染後 10 日目までの虫体回収率が 22.0~32.4% で、15 日目で 5.0% に低下したと述べて

いる。斉藤<sup>9)</sup>は新潟県産のアユ寄生の Mc とフナ寄生のそれとをマウスを用いて比較し、両者の寄生状況はよく似ており、アユ寄生の Mc を 50 コずつ投与した場合、虫体回収率が感染後 10 日目まで 51.0~54.6% と高く、16 日目以後次第に減少し、24~40 日目では 12.0~17.0% となったと報告した。横川ら<sup>9)</sup>は愛媛県肱川産アユ寄生の Mc を用いて、ハムスター、コットンラット、ラット (Wistar 系)、dd/YE マウスとモルモットの動物種差による感受性について比較し、マウスでは Mc を 200 コずつ投与した後、虫体回収率が 1 週~6 週まで極めて低く (0.7~2.7%)、マウスが本吸虫に対して極めて低い感受性を示し、好適宿主ではないとした。また、影井ら<sup>10)</sup>も島根県高津川産のアユ寄生の Mc を用いて、イヌ、ハムスター、マウスでその感受性を比較検討し、Mc を 40~50 コずつ投与したマウスで虫体回収率が最も低く、感染後 15 日目まで 13.9~32.1% を示したのち、16 日以後急激に減少したと報告した。さらに、氏はマウスにおいて感染後 4 日目以内の虫体回収率にかなりのばらつき (0~58%) を認めている。このような研究者間の成績に差異があることは、動物の種差や同種動物でも個体差があることはもちろんであるが、使用する Mc 側の条件、すなわち投与数や成熟度、殊にその感染力が均一であるか否かに大きく左右されるものと考えられる。したがって、著者はマウスにおける本吸虫の寄生状況に関与する諸条件について検討した。

著者はまず Mc の感染条件を統一するために、魚体より人工消化法で分離した Mc の冷蔵庫内 (4℃) 保存期間による感染力への影響を調べた。その結果、保存期間が 3 週以内のものではその感染力はほぼ変わらなかった。このような Mc を用いて、SPF 条件の ddY マウスに 25 コから 800 コに至る種々の数の Mc を感染させると、感染後 7 日目の虫体回収率が投与数の増加と逆に減少した。しかし、Mc 100 コと 25 コの投与では比較的安定した高い虫体回収率 (71.9~88.0%) が得られ、その主なる寄生部位は小腸 II~III 部であることがわかった。また、SPF 条件の ddY マウスにおける Mc 100 コ投与後の経時的寄生状況においても、感染後 3 日目から 7 日目まで 77.7%~81.4% と高い虫体回収率がみられ、ばらつきも小さく、その寄生部位も小腸 III 部に最も多かった。このように感染初期に高い虫体回収率が得られたことは、Mc の条件を統一したことによるものと考えられるが、SPF 条件の ddY マウスを使用したことも一因を成すと考えられる。今回、SPF 条件のマウスと conventional マウスとの感受性の比較をしなかったが、ある種の寄生虫感染は他の種の感染に対して cross-resistance を増加させると

する報告<sup>48)</sup>もあり、SPF 条件は本吸虫に対するマウスの感受性を高めているものと考えられる。

マウスにおける本吸虫の経時的な寄生状況は、先人の報告と同様に、Mc 100 コを感染させると 10 日目以後虫体の排除現象が観察された。感染後 10 日目で個々の虫体回収率にばらつきが増加するとともに、虫体回収率が 39.1±26.8% と減少し、14 日目で 5.7% となった。これは虫体が小腸下部へ移行しながら排除されていくものと思われる。この排除現象はいわゆる population effect あるいは感染後に発現する抵抗性の増大によって生ずると考えられた。Wakelin<sup>26)(49)</sup>は *T. muris* 感染の random-bred マウスで虫体排除期にかなりの個体差を認め、これが遺伝的支配によるものとしている。Hayakawa ら<sup>50)</sup>はクローズドコロニーの非近交系マウス (ICR) において、ヘモグロビン  $\beta$  鎖あるいは免疫グロブリンの産生を支配する遺伝形質の表現型にかなりのばらつきを認めている。したがって、本吸虫感染後 10 日目前後の虫体排除期の大きなばらつきは、非近交系の ddY マウスがもつ遺伝形質の個体差に起因していることを示唆している。

本吸虫感染に対する ddY と C57BL/6 マウスの雌雄における虫体回収率に有意差はなかった。しかし、Dawkins ら<sup>13)</sup>は、*S. ratti* 感染の C57BL/6 マウスで雌の方が雌より感受性が高かったとした。Wakelin<sup>41)</sup>は、*T. muris* での実験で雌の方に感受性が高かったと報告している。このように、マウスの雌雄における感受性の差異は虫種差によるか宿主差によるかなお不明である。しかし、虫体自身が雌雄異体である *S. ratti* や *T. muris* などの線虫類の感染では、宿主の性ホルモンもこの感受性に関与しているかもしれない。

近交系マウスの各種寄生虫に対する感受性は、腸管寄生の線虫類の *S. ratti*<sup>13)</sup>、*T. spiralis*<sup>14-22)</sup>、*T. muris*<sup>23-26)</sup>、吸虫類の *S. mansoni*<sup>27)</sup>、*S. japonicum*<sup>28)</sup>、*F. hepatica*<sup>29)(30)</sup> 等で報告されている。Dawkins ら<sup>13)</sup>は、*S. ratti* を感染させた 12 系統のマウスの感受性について糞便内幼虫数を指標として検討し、このうち C57BL/6、CBA と BALB/c の 3 系統のマウスが最も感受性が高いとし、この感受性は H-2 haplotype の遺伝子座に連関しないとした。Rivera-Ortiz ら<sup>15)</sup>は *T. spiralis* に対する感受性を腸管内虫体数の多少で判定し、感受性が LAF<sub>1</sub>、SJL、AKR、DBA/1 の順であり、レアギン産生能が腸管内成虫数とは相関せず、筋肉内幼虫数とは逆の相関をすることを報告した。保阪ら<sup>24)</sup>は *T. muris* に対する感受性について、感染後 40~50 日目の感染率が DBA/2、C3H、C57BL/6 の順に減少し、CBA、CFW では感染しなかったとした。吉村<sup>29)</sup>は、*S. japonicum* に対する感受性を門脈内に寄生した



虫体数を指標として検討し、AKR, CF #1, A の系統マウスで虫体回収数がよく、ついで dd, DDD, DBA, KK, BALB/c, C3H/He, C57BL/6, fm の順であることを認めた。一方、Chapman ら<sup>30)</sup>は *F. hepatica* を用いて、マウスの致死率、感染率、虫体回収数により感受性を比較したが、9 系統のマウスで差異が見られないとしている。

以上、各種寄生虫に対する系統マウスの感受性は虫種の違いによって極めて多様かつ複雑であり、宿主の遺伝支配の多様性がうかがわれる。*T. spiralis* 感染のマウスでは phase (stage) specific 免疫が認められている<sup>21)</sup>。また、Wassom ら<sup>17)</sup>は *T. spiralis* 感染への H-2 haplotype の関与について筋肉内幼虫数を指標として検討し、この筋肉内幼虫数には小腸内寄生成虫数、虫体の排除率、雌成虫の産仔虫率、筋肉内に被囊する仔虫数等が影響すると述べている。したがって、感受性の検討に用いる指標は個々の寄生虫に対して慎重な考慮が必要と考えられる。

ところで、本吸虫に対する近交系マウスにおける感受性の検討はまだない。本吸虫は小腸壁に侵入することなく、常に小腸内腔に寄生し、比較的短期間に成熟産卵するという極めて単純な寄生現象を示すことから、本吸虫の感受性の比較は単に腸管内虫体数をもって行いうるものと思われた。著者は今回、感染後 7 日目の虫体回収率を指標として 8 系統のマウスの感受性をみると、ddY マウスの感受性が最も高く、ついで、CDF<sub>1</sub>, DBA/2, BALB/c, C3H/He, B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, BDF<sub>1</sub> と C57BL/6 の順であった。このことは近交系マウスに比べ SPF 条件の ddY マウスは本吸虫に感受性の高い終宿主であり、人体モデルとして十分役立つと思われた。

本吸虫感染後の虫体排除期におけるばらつきには、他種感染<sup>21)22)</sup>でみられるような H-2 haplotype の遺伝支配が十分考えられるが、congenic<sup>17~22)</sup>や recombinant<sup>17)18)22)</sup>マウスを用い検討を行わなければならない。また、本吸虫感染に対する抵抗性を示す遺伝形質も、今回の成績から dominant であると思われるが、戻し交配や交雑第 2 代の検討が必要であろう。

## II. 横川吸虫感染における免疫機序の関与について

ヌードマウス<sup>31~33)</sup>やコーチゾン処理マウス<sup>38)41~46)</sup>

は、各種寄生虫感染に対する宿主の免疫機序の関与の究明に用いられている。本実験においても本吸虫に対するヌードマウス BALB/c nu/nu の感受性は高く、対照の BALB/c +/nu や ddY マウスに比べて感染後 14 日目の虫体回収率が有意に高いことを認めた。このことは腸管内線虫類<sup>37)51)</sup>と同様、本吸虫のマウス小腸内腔からの排除現象に胸腺依存性の抵抗性が関与して

いると思われた。さらに、コーチゾン処理することによって虫体排除が遅延する傾向がみられた。コーチゾンは免疫抑制剤として X 線照射<sup>37~40)</sup>と同様、宿主に免疫抑制を起こさせる実験モデルとして用いられ、本剤の作用機序から腸管寄生線虫の排除に炎症反応が関与すると考えられている<sup>45)51)</sup>。本吸虫感染においても同様のことが考えられる。

ところで、本吸虫における免疫学的研究は甚だ少ないが、具島<sup>4)</sup>はマウスやラットを用い数回の重複感染を行ったところ、Mc の投与回数が多くなるに従って宿主の抵抗性が明らかに高くなり、再感染後の虫体回収率が低下するのみならず、幼虫の発育障害があったと報告した。氏<sup>5)</sup>はまた、Mc 投与のみならず成虫乳剤抗原注射や抗原の経口接種によっても抵抗性の獲得を認めている。また、感染防御能は初感染後 4 日目では弱い（再感染後の虫体減少率、11.8%）が、次第に増強し 15~20 日目で最高となり、ほぼ 100 日目で認められなくなったとした。しかし、氏の成績では初感染後の虫体回収率を考慮に入れていないし、Mc 100 コを 1 回感染した時の 4 日目の虫体回収率も 22% と極めて低かった。

著者も今回、感染防御能の発現の有無などについて検討したところ、この防御能の発現が極めて早期であり、初感染後 3 日目で認められた。そして、この防御能は 35 日目ではほぼ最高となり、105 日目でも持続がみられた。また、初感染後 21 日目の時期に再感染すると、再感染後 5 日目には虫体回収率の明らかな低下を認めた。この理由として、本吸虫が他の腸管寄生虫とは異ってマウスにおいて感染後 7 日前後で成熟産卵するという特殊な生活史をもち、感染直後に小腸内腔で脱囊した幼虫が恐らく旺盛な代謝を行いつつ成熟し、この際幼虫由来の排泄分泌物(excretory-secretory 抗原、以下 ES 抗原と略)が抗原として作用し、宿主マウスに早い時期から感染防御能をもたらすものと思われた。小泉ら<sup>52)53)</sup>は *Toxocara canis* 感染ラットにおいて幼虫の ES 抗原が強い免疫原となっており、これが細胞性免疫に依存した感染防御能を担っていると報告している。本吸虫感染においても腸管における防御免疫機序へ、ES 抗原がどの程度関与するか今後さらに検討する必要がある。

著者<sup>54)55)</sup>は本実験と並行して、横川吸虫感染マウスの腸管の病態生理学的変化として粘膜透過性の亢進、小腸壁における杯細胞や肥肝細胞の増加、さらに末梢血液内好酸球数の増加、腸間膜リンパ節と脾臓の重量増加などを認めている。Lee<sup>56)</sup>も横川吸虫感染のネコの腸管において、炎症反応に一致した絨毛の溶解等による絨毛/腺窩の比の減少、間質の浮腫や細胞浸潤、

杯細胞の脱顆粒現象を認めている。したがって、胸腺依存性の免疫機序と腸管における病態生理学的変化とが、本吸虫感染の虫体排除現象の促進や感染防御免疫の発現に密接にかかわり合っていると推察した。

一方、腸管寄生虫感染に対する宿主の抗体産生についての報告は少なく、*T. spiralis* 感染マウスでは特異 IgG<sub>1</sub> や IgE の産生が認められ<sup>15)</sup>、*Nippostrongylus brasiliensis* 感染ラットでは血清中および小腸局所の IgA や IgG の増加を認めている<sup>57)</sup>。また、*Diphyllobothrium latum* 感染の人体症例でも total IgG や IgE の増加が報告されている<sup>58)</sup>。しかし、腸内洗滌液の分泌型抗体である IgA の抗体作用がないとする報告もあるので<sup>59)</sup>、今後このような抗体産生の有無についても本吸虫感染マウスで検討したい。

横川吸虫感染の流行地域における住民がその食習慣から本吸虫の Mc を経口摂取する機会は極めて多く、重複感染は免れえないと思われる。したがって、このようなマウスにおける基礎的研究結果から、本吸虫症の免疫寄生虫学的または免疫疫学的検討が今後必要と思われる。

## 結 論

横川吸虫 *Metagonimus yokogawai* Katsurada, 1912 を感染したマウスにおける小腸内腔の寄生状況に関与する虫体側要因と宿主側要因について、虫体回収率を指標として検討し、以下の結果を得た。

1. ウグイから分離した Mc を保存液中で冷蔵庫内(4℃)保存すると、3 週目まで感染力に変化が認められなかった。この結果から、本吸虫の感染実験にはこのような同一条件の Mc を使用することが必要であると明らかにした。
2. マウスに Mc を投与すると投与数の増加とともに虫体回収率は減少したが、投与数が 100 コと 25 コでは比較的安定した高い虫体回収率を認めた。
3. SPF 条件の ddY マウスに Mc 100 コを投与すると、感染後 7 日目まで 77.7%~81.4% と虫体回収率は極めて高く、ばらつきも少なかった。しかし、10 日目以後虫体は小腸下部へ移行しつつ、ついには小腸内腔より排除された。
4. ddY と C57BL/6 マウスにおける雌雄の感受性に有意差は認められなかった。
5. 4 系統の近交系マウスについて感受性を ddY マウスと比較すると、ddY マウスのそれが最も高く、ついで DBA/2, BALB/c, C3H/He, C57BL/6 の順であった。
6. これら近交系マウスの交雑第 1 代 (B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>, BDF<sub>1</sub>, CDF<sub>1</sub>) の感受性は、感受性の低い方の親のそ

れを受けついで。

7. ノードマウスやコーチゾン処理マウスでは、ddY マウスに比べ明らかに虫体回収率が増加することから、虫体排除現象には胸腺依存性の免疫機序や炎症反応の関与が示唆された。

8. 本吸虫感染による感染防御能は初感染後 3 日目で既に発現し、ほぼ 35 日目で最高となり、105 日目までは防御能を保持していた。また、初感染後 21 日目に再感染すると虫体排除は初感染に比べ有意に、かつより早く認められた。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました吉村裕之教授に深く感謝の意を表するとともに、御助言いただきました近藤力王至助教授、動物実験施設の早川純一郎助教授ならびに教室員諸氏に心から感謝いたします。

また、淡水魚の採取に御協力頂いた輪島市医師清水正明博士や町野町農業協同組合の方々に深甚なる謝意を表します。

なお本研究の一部は、石川県厚生部の調査研究助成金(昭和 55-57 年度)によった。

本論文の要旨は、第 49 回日本寄生虫学会大会(1980)、第 36 回日本寄生虫学会西日本支部第 33 回日本寄生虫学会南日本支部合同支部大会(1981)、第 52 回日本寄生虫学会大会(1983)で発表した。

## 文 献

- 1) 桂田富士郎：一新吸虫—メタゴニムス—ニ就テ。東医新誌, 1796, 3483-3489 (1912)。
- 2) 吉村裕之・近藤力王至・大西義博・西田和美・赤尾信明・岡本 敬・グン ヌグロフ・養輪真澄・山岸未己造・立川由明・山田 修・芦原百合子：石川県奥能登地方における横川吸虫症。日医新報, 2822, 31-34 (1978)。
- 3) 伊藤二郎：日本における寄生虫学の研究。第 3 巻, 171-237 頁, 目黒寄生虫館, 東京, 1963。
- 4) 具島正敏：横川吸虫ノ免疫学的研究。医研究, 13, 593-636 (1939)。
- 5) 具島正敏：横川吸虫ノ免疫学的研究(続報)。医研究, 13, 1713-1796 (1939)。
- 6) 古賀元晃：めたごにむす属吸虫ニ関スル研究。医研究, 12, 3471-3528 (1938)。
- 7) 具島正敏：「マウス」及ビ家鶏幼雛体内ニ於ケル横川吸虫ノ发育ニ就テ。医研究, 13, 637-655 (1939)。
- 8) 斉藤 奨：メタゴニムス属吸虫の研究 II。メタゴニムス属吸虫メタセルカリアのマウスおよびイヌ感染実験。新潟医会誌, 82, 694-706 (1968)。
- 9) 横川宗雄・佐野基人：腸管寄生吸虫類に関する研

究(4)横川吸虫の実験小動物における発育について。寄生虫誌, 17, 540-545 (1968).

10) 影井 昇・木畑美知江: 横川吸虫の2・3動物体内における発育とそれに伴う産卵活動について。公衛院研報, 19, 48-63 (1970).

11) 吉村堅太郎: 寄生虫疾患モデルとしての系統動物。実験動物, 27, 331-335 (1978).

12) 吉田幸雄: 疾患モデル動物ハンドブック(川俣・松下編), 第1版, 580-585頁, 医歯薬出版, 東京, 1979.

13) Dawkins, H. J. S., Grove, D. I., Dunsmore, J. D. & Mitchell, G. F.: *Strongyloides ratti*: Susceptibility to infection and resistance to reinfection in inbred strains of mice as assessed by excretion of larvae. Int. J. Parasitol., 10, 125-129 (1980).

14) Stefański, W. & Kozar, M.: Degree of resistance of some mouse strains to *Trichinella spiralis* infection. Wiad. Parazytol., 15, 571-575 (1969).

15) Rivera-Ortiz, C.-I. & Nussenzweig, R.: *Trichinella spiralis*: Anaphylactic antibody formation and susceptibility in strains of inbred mice. Exp. Parasitol., 39, 7-17 (1976).

16) Tanner, C. E.: The susceptibility to *Trichinella spiralis* of inbred lines of mice differing at the H-2 histocompatibility locus. J. Parasitol., 64, 956-957 (1978).

17) Wassom, D. L., David, C. S. & Gleich, G. J.: Genes within the major histocompatibility complex influence susceptibility to *Trichinella spiralis* in the mouse. Immunogenetics, 9, 491-496 (1976).

18) Wakelin, D.: Genetic control of immunity to parasites. Infection with *Trichinella spiralis* in inbred and congenic mice showing rapid and slow responses to infection. Parasite Immunol. (OXF), 2, 85-98 (1980).

19) Alizadeh, H. & Wakelin, D.: Genetic factors controlling the intestinal mast cell response in mice infected with *Trichinella spiralis*. Clin. Exp. Immunol., 49, 331-337 (1982).

20) Bell, R. G., McGregor, D. D. & Adams, L. S.: *Trichinella spiralis*: Characterization and strain distribution of rapid expulsion in inbred mice. Exp. Parasitol., 53, 301-314 (1982).

21) Bell, R. G., McGregor, D. D. & Adams, L. S.: *Trichinella spiralis*: Genetic basis for differential expression of phase-specific intestinal immunity in inbred mice. Exp. Parasitol., 53, 315-325 (1982).

22) Wakelin, D. & Donachie, A. M.: Genetic

control of immunity to *Trichinella spiralis*: influence of H-2 linked genes on immunity to the intestinal phase of infection. Immunology, 48, 343-350 (1983).

23) Worley, D. E., Meisenhelder, J. E., Sheffield, H. G. & Thompson, P. E.: Experimental studies on *Trichuris muris* in mice with an appraisal of its use for evaluating anthelmintics. J. Parasitol., 48, 433-437 (1962).

24) 保阪幸男・伊藤洋一: *Trichuris muris* の感染に及ぼす諸因子(2)各種系統マウスの感受性について。寄生虫誌, 22, 8 (1973).

25) 影井 昇・木畑美知江: 異なる系統のマウスにおけるネズミ鞭虫感染態度の差異。寄生虫誌, 22, 70 (1973).

26) Wakelin, D.: Genetic control of immune responses to parasites: immunity to *Trichuris muris* in inbred and random-bred strains of mice. Parasitology, 71, 51-60 (1975).

27) Stirewalt, M. A., Shepperson, J. R. & Lincicome, D. R.: Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in four strains of mice. Parasitology, 55, 227-235 (1965).

28) 吉村堅太郎: 日本住血吸虫に対する各種近交系マウスの感受性の差異。寄生虫誌, 15, 297 (1966).

29) Harness, E., Doy, T. G. & Hughes, D. L.: The recovery after oral infection of immature *Fasciola hepatica* from the peritoneal cavity of two strains of mice. Res. Vet. Sci., 15, 393-395 (1973).

30) Chapman, C. B. & Mitchell, G. F.: *Fasciola hepatica*: Comparative studies on fascioliasis in rats and mice. Int. J. Parasitol., 12, 81-91 (1982).

31) Phillips, S. M., DiConza, J. J., Gold, J. A. & Reid, W. A.: Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse I. Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation, and host morbidity. J. Immunol., 118, 594-599 (1977).

32) 大沢仲昭: 疾患モデル動物ハンドブック(川俣・松下編), 第1版, 625-628頁, 医歯薬出版, 東京, 1979.

33) Sugane, K. & Oshima, T.: Eosinophilia, granuloma formation and migratory behaviour of larvae in the congenitally athymic mouse infected with *Toxocara canis*. Parasite Immunol. (OXF), 4, 307-318 (1982).

34) 小島莊明・鍛冶良一・上條敏子: *Nippostrongylus brasiliensis* の排除におけるマスト細胞の関与について。寄生虫誌, 30, 12-13 (1981).

35) Crowle, P. K. & Reed, N. D.: Rejection of

the intestinal parasite *Nippostrongylus brasiliensis* by mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> anemic mice. Infect. Immun., 33, 54-58 (1981).

36) Mitchell, L. A., Wescott, R. B. & Perryman, L. E.: Kinetics of expulsion of the nematode, *Nippostrongylus brasiliensis*, in mast cell-deficient W/W<sup>v</sup> mice. Parasite Immunol. (OXF), 4, 1-12 (1983).

37) Ogilvie, B. M. & Love, R. J.: Co-operation between antibodies and cells in immunity to a nematode parasite. Transplant. Rev., 19, 147-168 (1974).

38) Aggarwal, A., Sharma, G. L., Bhatia, A., Naik, S. R., Chakravarti, R. N. & Vinayak, V. K.: Effect of corticosteroid and irradiation on experimental *Giardia lamblia* infection in mice. Ann. Trop. Med. Parasitol., 74, 369-371 (1980).

39) Wakelin, D. & Wilson, M. M.: Immunity to *Trichinella spiralis* in irradiated mice. Int. J. Parasitol., 10, 37-41 (1980).

40) Ikeda, T. & Fujita, K.: IgE in *Paragonimus ohirai*-infected rats: Effect of X-irradiation. J. Parasitol., 68, 955-957 (1982).

41) Wakelin, D.: Acquired immunity to *Trichuris muris* in the albino laboratory mouse. Parasitology, 57, 515-524 (1967).

42) 中山一郎・青木豊治: 実験的急性トキソプラズマ症の治療に対するコーチゾン使用の影響。寄生虫誌, 21, 109-117 (1972).

43) 伊藤洋一・保阪幸男: *Trichuris muris* の感染に及ぼす諸因子 (3) コーチゾン投与時期の感染に及ぼす影響。寄生虫誌, 22, 58 (1973).

44) 影井 昇・木畑美知江: 鼠鞭虫の発育に対する cortisone の影響。寄生虫誌, 22, 8 (1973).

45) Larsh, J. E. JR. & Race, G. J.: Allergic inflammation as a hypothesis for the expulsion of worms from tissues: a review. Exp. Parasitol., 37, 251-266 (1975).

46) Tanabe, M., Hosaka, Y., Ito, Y., Senda, F. & Okuda, T.: Effect of neonatal thymectomy and administration of immunosuppressants on the acquired resistance of mice to infection with the nematode, *Trichuris muris*. Jpn. J. Parasitol., 28, 339-346 (1979).

47) 吉村裕之: 寄生虫学新書 (吉村編), 第6版, 220

-222 頁, 文光堂, 東京, 1978.

48) Nawa, Y., Mimori, T., Korenaga, M. & Tada, I.: Stage-specific cross-resistance between *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides ratti* (Nematoda) in rats. J. Parasitol., 68, 804-808 (1982).

49) Wakelin, D.: Genetic control of immune responses to parasites: selection for responsiveness and non-responsiveness to *Trichuris muris* in random-bred mice. Parasitology, 71, 377-384 (1975).

50) Hayakawa, J., Koizumi, T. & Natsume-Sakai, S.: Constancy of genetic variability in mice from non-inbred closed colonies. Lab. Anim., 14, 233-236 (1980).

51) Wakelin, D.: Immunity to intestinal parasites. Nature, 273, 617-620 (1978).

52) 小泉 勤・早川純一郎・近藤力王至: 犬蛔虫幼虫感染ラットの免疫原についての検討。寄生虫誌, 29, 97 (1980).

53) 小泉 勤・早川純一郎・近藤力王至・吉村裕之: 犬蛔虫幼虫 ES 抗原の感染防御免疫誘導について。寄生虫誌, 30, 18 (1981).

54) 大西義博・吉村裕之: 横川吸虫症に関する実験的研究 (3) 感染マウスにおける腸管粘膜の血管透過性の亢進と組織変化について。寄生虫誌, 31, 22 (1982).

55) 大西義博・吉村裕之: 横川吸虫症に関する実験的研究 (4) 感染防御免疫の発現時期と再感染後の病態変化について。寄生虫誌, 32, 92 (1983).

56) Lee, J. B., Chi, J. G., Lee, S. K. & Cho, S.-Y.: Study on the pathology of metagonimiasis in experimentally infected cat intestine. Korean J. Parasitol., 19, 109-129 (1981).

57) Siński, E. & Holmes, P. H.: *Nippostrongylus brasiliensis*: Systemic and local IgA and IgG immunoglobulin responses in parasitized rats. Exp. Parasitol., 43, 382-389 (1977).

58) 近藤力王至・吉村裕之・西田和美・大西義博・上村 清: 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究 (1) 感染者の血清グロブリン, 特に IgE 値および沈降反応について。寄生虫誌, 26, 265-270 (1977).

59) Gerber, H.-Ch., Hörchner, F. & Zander, B.: Immunmechanismus der Ratte gegen *Nippostrongylus brasiliensis* in vitro. I. Einfluß von humoralen und sekretorischen Antikörpern sowie Mastzellen. Z. Parasitenkd., 50, 57-66 (1976).

**Experimental Studies on *Metagonimus yokogawai* Infection in the Mouse** Yoshihiro Ohnishi, Department of Parasitology (Director, Prof. H. Yoshimura), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — J. Jusen Med. Soc., **92**, 585—597 (1983)

**Key words:** *Metagonimus yokogawai*, Mouse, Susceptibility, Worm recovery, Protective immunity.

#### Abstract

The factors were investigated which influence worm recovery from the small intestine of several strains of mice, experimentally infected with metacercariae of *Metagonimus yokogawai* Katsurada, 1912. Prior to infection experiments, the relation between the preservation period and infectivity of metacercariae kept in the refrigerator at 4°C was established. It was found that metacercariae kept in the refrigerator for less than 3 weeks were available for experimental infection. When the various numbers from 25 to 800 metacercariae were orally given to ddY mice, the rate of worm recovery did not increase in parallel with the increasing numbers of the metacercariae given. However, when 100 metacercariae were given to each mouse a relatively stable and high recovery rate of the parasites was obtained. The rate of worm recovery from ddY mice infected with 100 metacercariae for 3 to 7 days was found to range from 77.7 to 81.4%. There was no statistical difference in the recovery rate between males and females of ddY or C57BL/6 mice. The order of susceptibility of mice was ddY, DBA/2, BALB/c, C3H/He and C57BL/6, ddY mice being the most susceptible host of *M. yokogawai*. The rate of worm recovery at the 14th day after infection from nude mice (BALB/c *nu/nu*) or cortisone-treated mice was higher than that of ddY or BALB/c *+/nu* mice. Worm expulsion was considered to be closely related to the thymus-mediated immune mechanism associated with inflammatory responses of the intestinal wall in the infected mice. The protective effect against the subsequent infection began to appear on the 3rd day after the primary infection. The expelling of worms from mice which had been reinfected 21 days after the primary infection began earlier than from the cases with the primary infection alone. The present study revealed that the status of *M. yokogawai* infection in mice was evidently influenced not only by the metacercarial conditions but also by the difference of susceptibility of various strains of mice and by the protective immune mechanism involved.